

我国代表性茶树种质嘌呤生物碱的鉴定

金基强^{1,2}, 周晨阳¹, 马春雷¹, 姚明哲¹, 马建强^{1,2}, 陈亮¹

(¹ 中国农业科学院茶叶研究所/国家茶树改良中心, 杭州 310008; ² 中国农业科学院研究生院, 北京 100081)

摘要:从国家种质杭州茶树圃选取了 403 份有代表性的茶树资源, 采用 HPLC 对嘌呤生物碱进行了 2 年、春秋两季的重复鉴定。结果表明, 年度和季节间咖啡碱含量总体稳定, 但可可碱含量春季变化显著。93% 以上资源的咖啡碱含量为 25.0 ~ 45.0 mg/g。茶的 3 个变种间, 咖啡碱含量存在显著差异, 且阿萨姆茶秋季较春季咖啡碱含量明显增加。来源于不同地区的资源咖啡碱含量存在显著差异, 其中云南和广东的资源变异系数和多样性指数最大。从 403 份资源中筛选出 3 份高咖啡碱、1 份高苦茶碱(低咖啡碱)和 2 份高可可碱(低咖啡碱)等 6 份特异资源。

关键词: 茶树; 种质资源; 生物碱; 鉴定; 特异资源

Identification on Purine Alkaloids of Representative Tea Germplasms in China

JIN Ji-qiang^{1,2}, ZHOU Chen-yang¹, MA Chun-lei¹, YAO Ming-zhe¹, MA Jian-qiang^{1,2}, CHEN Liang¹

(¹ Tea Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Center for Tea Improvement, Hangzhou 310008;

² Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: A set of 403 tea genetic resources selected from China National Germplasm Hangzhou Tea Repository (CNGHTR) was tested the purine alkaloids content of spring and autumn in two years using HPLC. It revealed the caffeine content of tea genetic resources were relatively stable between years and seasons, while the theobromine content had a significant variation in spring. The caffeine content of more than 93% resources varied from 25.0 to 45.0 mg/g. Caffeine content had a significant difference in the three varieties of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze, and that of *assamica* variety in autumn was significantly higher than in spring. The variation of caffeine among different provinces had been investigated. It had a significant difference in the contents among various regions, of which Guangdong and Yunnan had higher coefficient of variation (CV) and diversity indices (*H'*). Moreover, 6 specific tea accessions were screened out including 3 high caffeine, 1 low caffeine and high theacrine, and 2 low caffeine and high theobromine accessions.

Key words: tea; germplasm; purine alkaloid; identification; specific germplasm

生物碱是一类小分子量含氮化合物, 在约占自然界 1/5 数量的植物种类中均有分布^[1]。嘌呤生物碱是其中一种具有重要性质的生物碱, 其特点是具有相同的嘌呤环结构, 在植物中的代谢途径十分多样, 在特定的条件下可以相互转化, 主要包括咖啡碱 (caffeine)、茶叶碱 (theophylline)、可可碱 (theobromine)、黄嘌呤 (xanthine)、次黄嘌呤 (hypoxanthine)、拟黄嘌呤 (paraxanthine) 和甲基尿酸 (methyluric

acid) 等^[2]。茶组 (*Camellia* Sect.) 植物中嘌呤生物碱多以咖啡碱为主, 其含量约占植物干重的 2% ~ 5%, 而茶碱和可可碱的含量很少, 但迄今已发现了不同的生物碱分布模式, 如在可可茶^[3,4]和部分厚轴茶^[5]等植物中富含可可碱, 在野生厚轴茶中发现了优势嘌呤碱为茶叶碱的植物^[6], 在苦茶中发现了苦茶碱 (1, 3, 7, 9-四甲基尿酸, theacrine) 含量十分丰富的植物^[7]。

收稿日期: 2013-05-16 修回日期: 2013-07-04 网络出版日期: 2014-01-24
URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/10.13430/j.cnki.jpgr.2014.02.008.html>
基金项目: 国家茶叶产业技术体系项目 (CARS-23); 国家自然科学基金项目 (30901159, 31170624, 31100504); 浙江省自然科学基金项目 (Y3090041)

第一作者研究方向为茶树资源与遗传改良。E-mail: xyjjq2000@163.com
通信作者: 陈亮, 研究方向为茶树资源与遗传改良。E-mail: liangchen@mail.tricaas.com

生物碱是影响茶叶风味的主要生化物质之一,同时也是重要的功能成分。目前,国家种质杭州茶树圃共收集保存了中国 19 个省(区、市)及日本、肯尼亚等 8 个国家的野生茶树、农家品种、育成品种、珍稀资源和近缘植物等 3000 余份,涵盖了包括山茶属茶组植物的全部 5 个种和 2 个变种以及一些近缘种^[8]。本课题组已对其中 596 份资源春茶的咖啡碱含量进行了鉴定^[9],但该研究未测定茶叶碱、可可碱等的含量,也没有评价茶树生物碱的季节性变化。本研究选取了 403 份有代表性的茶树资源进行了春秋两季、年度重复鉴定和系统评价,以期有效掌握其生物碱的变异和多样性情况,充分发掘我国茶树特异资源,并为茶树遗传改良和优异基因挖掘提供基础材料。

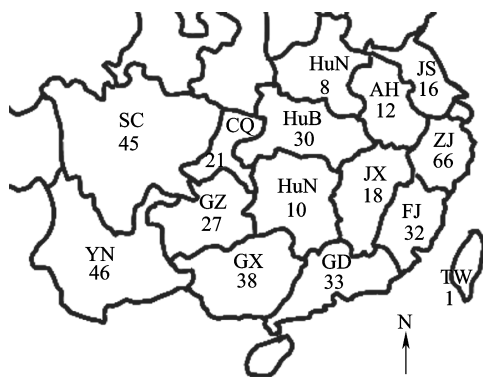
1 材料与方法

1.1 试验材料

兼顾地理位置和表型差异选取具有代表性的资源作为研究对象,材料包括 4 大茶区 15 省(区、市)的野生茶树、地方品种和选育品种(系)403 份(图 1),分别含 321 份茶(*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze var. *sinensis*)、21 份阿萨姆茶(*C. sinensis* var. *assamica* (Masters) Kitamura)、30 份白毛茶(*C. sinensis* var. *pubilimba* Chang)、3 份大厂茶(*C. tachangensis* F. C. Zhang)、4 份厚轴茶(*C. crassicolumna* Chang)、1 份秃房茶(*C. gymnogyna* Chang)、7 份大理茶(*C. taliensis* (W. W. Smith) Melchior) 和 16 份尚未分类的资源(*C. sp.*),其中有性系资源仅选取代表性单株进行研究。所有材料全部来源于中国农业科学院茶叶研究所国家种质杭州茶树圃。

1.2 生化成分测定

参考《茶树种质资源描述规范和数据标准》^[10]的方法采样和固样,在 2010 年和 2011 年,分别采摘春季和秋季第 1 轮茶树新梢的 1 芽 2 叶,120 °C 热风干燥 5 min,75 °C 烘至足干。经粉碎过筛后采用高效液相色谱法(HPLC, high performance liquid chromatography)测定儿茶素和生物碱,各样品均重复测定 3 次。待测样品的前处理参照 GB/T 8313-2008^[11],液相色谱测定条件: C12 色谱柱 4.6 mm × 250 mm(4 μm, 广州菲罗门);流动相 A 为 0.5% 甲酸,流动相 B 为乙腈,流速 1 mL/min,柱温 30 °C,检测波长 280 nm,进样量 10 μL,梯度洗脱:流动相 B 在 16 min 内由 6.5% 线性梯度变化到 16%,第 16 min 到 20 min 由 16% 线性梯度变化到 25%,



AH、CQ、FJ、GD、GX、GZ、HeN、HuB、HuN、JS、JX、SC、TW、YN 和 ZJ 分别代表安徽、重庆、福建、广东、广西、贵州、河南、湖北、湖南、江苏、江西、四川、台湾、云南和浙江;图中数据为各地茶树资源份数

AH: Anhui, CQ: Chongqing, FJ: Fujian, GD: Guangdong, GX: Guangxi, GZ: Guizhou, HeN: Henan, HuB: Hubei, HuN: Hunan, JS: Jiangsu, JX: Jiangxi, SC: Sichuan, TW: Taiwan, YN: Yunnan, ZJ: Zhejiang; Graph data copies around the tea resources

图 1 供试茶树资源的来源

Fig. 1 The sampling number and distribution of tea accessions

保持 5 min,回到初始状态,再平衡 5 min。由于茶叶碱在大多数资源中未检出,本研究中生物碱总量为咖啡碱和可可碱含量的总和。2 份含苦茶碱的特异资源于 2012 年 9 月采样和固样后,由浙江大学茶叶研究所郑新强副教授采用 HPLC 法^[7]测定。

1.3 低咖啡碱资源农艺性状与制茶品质鉴定

芽叶性状、抗寒性和物候期等主要农艺性状的观测方法参照陈亮等^[10]制定的标准;春季采摘 1 芽 2 叶新梢制作成烘青样,按 GB/T 23776-2009^[12]感官审评鉴定其制茶品质。

1.4 数据处理

统计分析通过 SPSS 13.0 统计软件进行。遗传多样性指数的计算采用 Shannon-Weaver 信息指数,即 $H' = -\sum P_i \ln P_i$ 。根据各性状的平均观测值($\bar{x}_i$)与标准差(δ),按照 $\bar{x}_i \pm k\delta$ (其中 $k=0, 0.5, 1, 1.5, 2$) 将每一具体性状的观测值划分为 1~10 等级,1 级 $< \bar{x}_i - 2\delta$, 10 级 $\geq \bar{x}_i + 2\delta$, 其中 P_i 为某性状第 i 个代码出现的频率^[13]。

2 结果与分析

2.1 我国茶树资源生物碱的总体变异情况

403 份资源生物碱的变异情况和分布特征见表 1。茶树的生物碱中,咖啡碱的含量最高,4 次测定的咖啡碱平均含量为 35.0~35.8 mg/g,秋茶略高

于春茶,整体来看,咖啡碱受季节影响较小。可可碱的平均含量为 2.4 ~ 4.3 mg/g,可能因为春季的气温不稳定,2011 年春茶的含量显著高于 2010 年,而秋茶年度间可可碱含量相对稳定。除 2010 年春茶的生物碱总量稍低外,其他 3 次生物碱的总量平均为 39.4 mg/g 左右。

403 份茶树资源中,春茶咖啡碱含量为 2.3 ~ 53.4 mg/g,秋季为 1.1 ~ 60.0 mg/g,秋茶的变异系数较春茶大。咖啡碱含量呈正态偏陡分布,但秋茶的峰度较春茶小。2010 年春、2011 年春、2010 年秋

和 2011 年秋分别有 97.3% (357 份)、95.6% (372 份)、93.5% (357 份) 和 93.4% (351 份) 资源的咖啡碱含量为 25.0 ~ 45.0 mg/g。可可碱春茶和秋茶的变异幅度分别为 0.5 ~ 46.7 mg/g 和 0.6 ~ 47.8 mg/g,变异系数很大,不符合正态分布。生物碱总量春茶和秋茶分别为 18.6 ~ 59.6 mg/g 和 17.9 ~ 62.6 mg/g,4 次都接近于正态分布,而秋茶较春茶的变异系数大。遗传多样性指数 (H') 最大的是生物碱总量 (2.04 ~ 2.08),其次为咖啡碱 (1.96 ~ 2.01),最小的是可可碱,仅为 1.45 ~ 1.69。

表 1 403 份中国茶树资源生物碱含量的变异情况和分布特征

Table 1 The variation and distribution of the purine alkaloids contents in tea germplasms of China

生化成分 Biochemical composition	季节 Season	样品数 No.	最小值 (mg/g) Min.	最大值 (mg/g) Max.	平均值 ± 标准差 (mg/g) Mean ± SD	变异系数 (%) CV	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness	遗传多样 性指数 H'
可可碱 Theobromine	2010 春	367	0.5	28.8	2.4 ± 1.9c	76.84	111.15	8.25	1.57
	2011 春	389	1.2	46.7	4.3 ± 3.1a	73.28	102.25	8.43	1.45
	2010 秋	382	0.7	34.4	3.5 ± 2.3b	66.43	78.14	6.50	1.69
	2011 秋	376	0.6	47.8	3.7 ± 3.2b	85.62	105.43	8.50	1.47
咖啡碱 Caffeine	2010 春	367	2.7	47.8	35.0 ± 4.7	13.55	6.34	-1.21	1.98
	2011 春	389	2.3	53.4	35.1 ± 5.1	14.64	7.98	-1.33	1.97
	2010 秋	382	3.2	58.0	35.8 ± 6.1	17.10	3.04	-0.04	2.01
	2011 秋	376	1.1	60.0	35.7 ± 6.5	18.09	4.80	-0.54	1.96
生物碱总量 Total alkaloids	2010 春	367	18.6	50.4	37.4 ± 4.9b	13.00	-0.21	0.77	2.06
	2011 春	389	21.2	59.6	39.4 ± 5.4a	13.60	0.51	-0.04	2.08
	2010 秋	382	20.6	62.6	39.3 ± 6.6a	16.78	0.66	0.41	2.04
	2011 秋	376	17.9	62.6	39.5 ± 6.6a	16.76	0.48	0.19	2.08

不同字母代表在 0.05 水平上差异有统计学意义,下同
Different letters represent significant difference at 5% level,the same as below

2.2 茶、阿萨姆茶和白毛茶间咖啡碱含量的比较

茶的 3 个变种间,茶及白毛茶的咖啡碱含量季节间较稳定,但阿萨姆茶秋季咖啡碱含量显著上升(表 2)。春季,茶的咖啡碱含量显著低于阿萨姆茶

和白毛茶,而阿萨姆茶和白毛茶相当;秋季阿萨姆茶的咖啡碱含量显著高于茶和白毛茶,而白毛茶的咖啡碱含量虽较茶高,但未达到显著水平。

表 2 茶的 3 个变种间咖啡碱含量的比较

Table 2 Caffeine content of the three varieties of *Camellia sinensis*

变种 Variety	2010 年春 Spring 2010	2011 年春 Spring 2011	2010 年秋 Autumn 2010	2011 年秋 Autumn 2011
茶 <i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	34.5 ± 4.2b(a)	34.7 ± 4.2b(a)	35.2 ± 5.4b(a)	35.2 ± 5.3b(a)
阿萨姆茶 <i>C. sinensis</i> var. <i>assamica</i>	37.1 ± 3.9a(b)	38.3 ± 3.3a(b)	42.9 ± 7.8a(a)	44.1 ± 5.8(a)
白毛茶 <i>C. sinensis</i> var. <i>pubilimba</i>	37.2 ± 3.5a(a)	38.1 ± 4.8a(a)	37.0 ± 4.0b(a)	36.1 ± 5.2b(a)

括号内字母代表不同季节在 0.05 水平上差异有统计学意义
Different letters in the bracket represent significant difference at 5% level between seasons

2.3 不同地区来源的茶树资源咖啡碱含量及多样性比较

不同地区来源的茶树资源咖啡碱含量的差异有统计学意义(表3)。其中,河南的资源咖啡碱含量最低,其次是江苏和浙江,春、秋两季均较低。春茶广西和湖南的资源咖啡碱含量较高,而秋茶云南的资源咖啡碱含量最高。为了进一步了解不同地区茶树资源咖啡碱含量的表型多样性,对样本量较大的10个省(市、区)的资源进行统计分

析。对各省资源随机抽取18份资源,重复3次比较,计算变异系数和遗传多样性指数,取平均值代表各地资源的变异和多样性水平。结果显示(图2),广东的变异系数和遗传多样性指数最高(分别为 $(20.8 \pm 1.2)\%$ 和 1.79 ± 0.03),其次是云南(分别为 $(17.6 \pm 2.1)\%$ 和 1.66 ± 0.09),而江西的遗传多样性指数也较高(1.65 ± 0.18),四川的变异系数和遗传多样性指数都最低(分别为 $(10.4 \pm 2.4)\%$ 和 1.37 ± 0.09)。

表3 不同地区来源间资源的咖啡碱含量比较

Table 3 Caffeine content comparson of tea germplasms from different geographical regions					(mg/g)
来源地 Origin	2010 年春 Spring 2010	2011 年春 Spring 2011	2010 年秋 Autumn 2010	2011 年秋 Autumn 2011	
安徽 Anhui	32.4 ± 2.7cd	35.6 ± 3.8ab	36.4 ± 6.2bcd	34.1 ± 3.6cd	
重庆 Chongqing	34.5 ± 3.4abcd	36.8 ± 2.4a	33.9 ± 6.0cd	34.2 ± 3.2bcd	
福建 Fujian	36.6 ± 4.6ab	35.2 ± 3.9ab	35.1 ± 4.1bcd	33.5 ± 3.7cd	
广东 Guangdong	36.7 ± 6.0ab	35.2 ± 8.3ab	33.9 ± 6.4cd	34.8 ± 9.7bcd	
广西 Guangxi	36.4 ± 3.5ab	37.7 ± 4.1a	36.6 ± 3.9bcd	36.5 ± 5.8bcd	
贵州 Guizhou	35.1 ± 3.2abc	35.9 ± 3.0a	37.4 ± 5.2bc	37.2 ± 5.3bc	
河南 Henan	31.5 ± 7.0d	29.7 ± 6.6c	32.8 ± 3.9d	32.4 ± 3.8d	
湖北 Hubei	35.0 ± 3.8abc	36.0 ± 3.5a	38.2 ± 3.9b	36.7 ± 4.0bcd	
湖南 Hunan	37.6 ± 4.5a	37.6 ± 4.4a	36.6 ± 5.2bcd	38.6 ± 5.3ab	
江苏 Jiangsu	31.5 ± 4.2d	34.2 ± 4.4ab	32.9 ± 5.7d	34.4 ± 3.8bcd	
江西 Jiangxi	37.1 ± 3.8ab	35.8 ± 4.3a	34.8 ± 5.2bcd	36.1 ± 4.6bcd	
四川 Sichuan	34.4 ± 2.6abcd	34.3 ± 3.0ab	34.4 ± 4.4bcd	34.8 ± 3.7bcd	
云南 Yunnan	35.8 ± 7.2abc	36.9 ± 7.0a	42.7 ± 9.5a	42.1 ± 9.1a	
浙江 Zhejiang	34.0 ± 4.0bcd	32.2 ± 3.6bc	33.4 ± 4.1cd	33.2 ± 5.2cd	

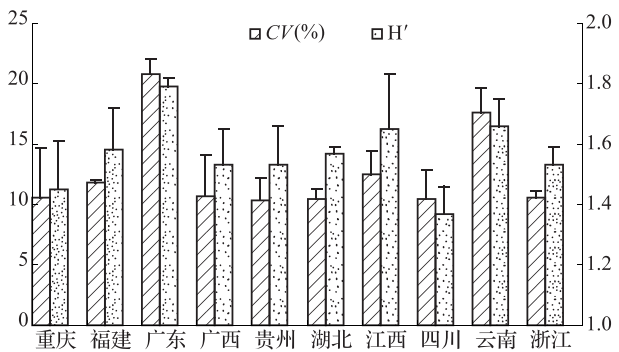


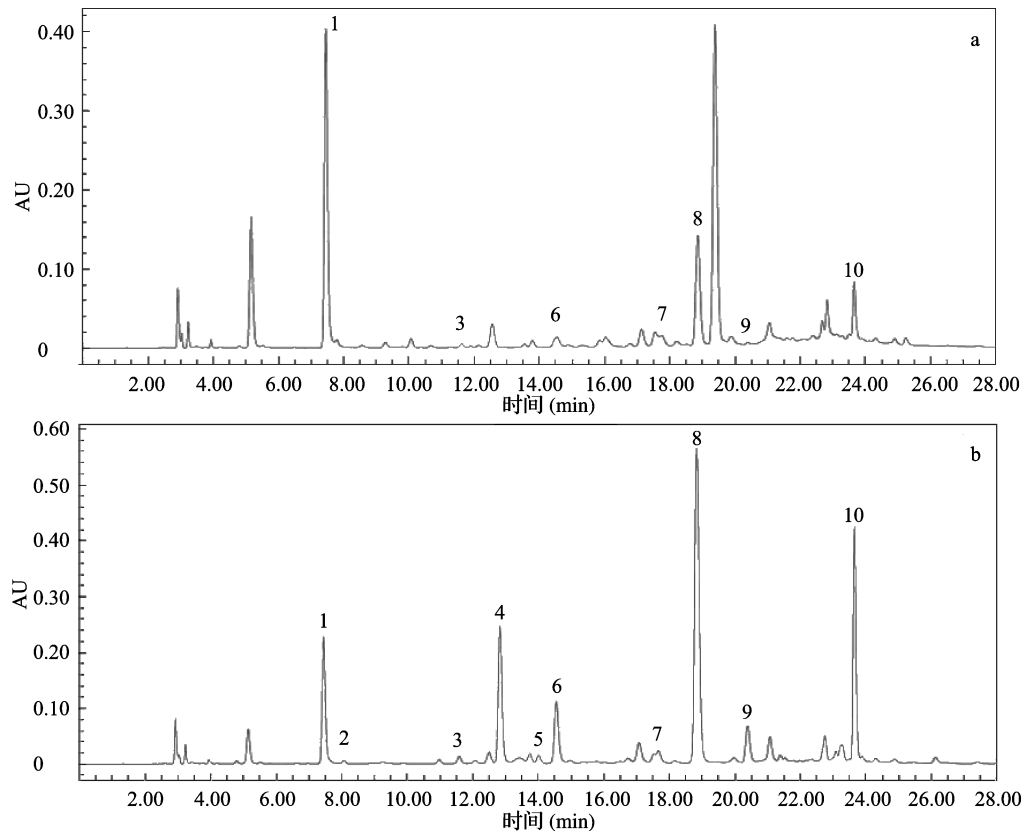
图2 不同地区来源间咖啡碱含量的变异系数(CV)和多样性指数(H')比较

Fig. 2 Estimates of variation coefficient (CV) and diversity indices (H') of tea germplasms from different geographical regions

2.4 特异资源的挖掘与鉴定评价

参考农业行业标准《农作物优异种质资源评价

规范 茶树》^[14],从上述403份资源中共鉴定出了6份特异资源(表4)。6份特异资源中,3份为高咖啡碱资源(师宗5-2、红河浪堤茶和楚雄中叶1-1),秋季都在50.0 mg/g以上,全部来自云南(表4)。2份低咖啡碱、高可可碱资源的儿茶素组成特殊,其中来源于广东的南昆山可可茶,没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)的含量在403份资源中最高,而来源于云南麻栗坡的麻栗坡群体为厚轴茶,春季和秋季儿茶素含量分别仅为51.3 mg/g和43.5 mg/g,低于常规资源(表5)。但麻栗坡群体的HPLC图谱与数份大理茶资源一样,在表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)后有一个峰面积很大、尚未被鉴定的特异峰(图3a),根据参考文献^[15]其可能为大理茶素。而来源于广东的乳源群体(图3b)为1份含苦茶碱的低咖啡碱资源,儿茶素组分与常规资源接近。



1:可可碱;2:没食子儿茶素;3:表没食子儿茶素;4:苦茶碱;5:儿茶素;6:咖啡碱;7:表儿茶素;
8:表没食子儿茶素没食子酸酯;9:没食子儿茶素没食子酸酯;10:表儿茶素没食子酸酯,下同
1:Theobromine,2:GC,(+)-gallocatechin,3:EGC,(-)-epigallocatechin,4:Theacrine,5:C,(+)-catechin,6:Caffeine,
7:EC,(-)-epicatechin,8:EGCG,(-)-epigallocatechin gallate,
9:GCG,(-)-gallocatechin gallate,10:ECG,(-)-epicatechin gallate,the same as below

图3 麻栗坡群体(a)与乳源群体(b)的HPLC图谱(2011年秋)
Fig.3 HPLC chromatogram of Malipo population(a) and Ruyuan population(b) (Autumn,2011)

表4 6份特异茶树资源的生物碱含量								
Table 4 The purine alkaloids contents of 6 accessions of specific tea germplasms (mg/g)								
资源 Germplasm	种(变种) Species(Variety)	春季 Spring			秋季 Autumn			
		可可碱 Theobromine	咖啡碱 Caffeine	生物碱总量 Total alkaloids	可可碱 Theobromine	咖啡碱 Caffeine	苦茶碱 Theacrine	生物碱总量 Total alkaloids
福鼎大白茶(CK)	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	1.9	35.3	37.2	3.0	35.2	—	38.2
师宗5-2	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	6.9	44.8	51.7	6.3	50.1	—	56.3
红河浪堤茶	<i>C. crassicolumna</i>	6.4	41.6	47.9	8.0	50.7	—	58.7
楚雄中叶1-1	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	3.0	40.5	43.5	2.4	54.9	—	57.3
麻栗坡群体	<i>C. crassicolumna</i>	30.1	3.3	33.4	31.5	2.2	—	33.7
南昆山可可茶	<i>C. sinensis</i> var. <i>pubilimb</i>	46.7	2.3	48.9	47.8	1.3	—	49.1
乳源群体	<i>C. sp.</i>	8.7	15.5	/	11.6	14.3	36.0	61.9

乳源群体的秋季结果于2012年鉴定,其余都为2010年和2011年2年鉴定结果的平均值。—表示未检出,/表示未检测苦茶碱含量,下同
The autumn result of Ruyuan population was identified in 2012,the purine alkaloids contents of other accessions were the means of 2010 and 2011. -indicates that data was not detected,/ indicates that the theacrine content was not detected,the same as below

表 5 3 份低咖啡碱资源的儿茶素组分

Table 5 The component of catechins of 3 low caffeine germplasms										(mg/g)
季节 Season	资源 Germplasm	GC	EGC	C	EC	EGCG	ECC	GCG	儿茶素总量 Catechins	
春季 Spring	福鼎大白茶(CK)	2.2	13.3	1.6	8.6	79.2	25.7	0.4	130.7	
	南昆山可可茶	22.7	2.1	30.9	15.9	13.0	3.2	77.6	165.4	
	麻栗坡群体	—	3.8	—	16.4	21.1	8.4	1.6	51.3	
	乳源群体	7.7	11.5	3.1	6.2	106.1	35.1	6.5	173.0	
秋季 Autumn	福鼎大白茶(CK)	2.9	24.9	0.8	11.4	99.9	25.5	0.2	164.1	
	南昆山可可茶	26.0	1.0	29.2	8.9	13.0	3.1	76.3	157.5	
	麻栗坡群体	—	2.8	—	6.8	26.1	7.0	0.8	43.5	
	乳源群体	11.5	17.9	4.2	9.4	95.5	31.8	8.7	170.3	

2010~2011 年 2 年鉴定结果的平均值

The catechin content of each accession was the mean of 2010 and 2011

2012 年对乳源群体和麻栗坡群体等 2 份低咖啡碱资源的春季新梢芽叶性状、耐寒性以及制茶品质进行了鉴定。结果表明(表 6),乳源群体的芽叶呈黄绿色(微紫)、新梢茸毛少,耐寒性较强,而麻栗坡群体芽叶呈紫绿色、新梢茸毛多,耐寒性弱,2 份资源春茶 1 芽 2 叶期较对照福鼎大白茶要晚 6~9 d。2 份低咖啡碱茶树资源的绿茶感官品质审

评鉴定结果见表 7。乳源群体和麻栗坡群体的总分均较对照福鼎大白茶低,但麻栗坡群体的滋味和香气都为 91 分,总体品质较好,而乳源群体虽香气尚可,但其滋味具有很强烈的苦味。总体上看,麻栗坡群体的绿茶品质正常,可以直接开发成天然低咖啡碱茶,而乳源群体需要进一步的遗传改良以去掉其特殊的苦味。

表 6 2 份低咖啡碱资源的春茶新梢芽叶性状和耐寒性

Table 6 The traits of young shoot and cold tolerance about 2 low caffeine germplasms

资源 Germplasm	芽叶色泽 Young shoot color	芽叶茸毛 Young shoot pubescence	1 芽 2 叶百芽重(g) 100-shoot weight of two and a bud	1 芽 2 叶期(月/日) Date of two and a bud	耐寒性 Cold tolerance
福鼎大白茶(CK)	黄绿色	多	21.15	4/3	强
乳源群体	黄绿色(微紫)	少	16.65	4/12	较强
麻栗坡群体	紫绿色	多	40.20	4/9	弱

表 7 2 份低咖啡碱资源的绿茶感官审评

Table 7 The sensory evaluation of green tea with low caffeine

茶样 Sample	外形 20% Shape		汤色 10% Liquor color		香气 30% Aroma		滋味 30% Taste		叶底 10% Infused leave		总分 Total score
	评语 Evaluation	分数 Score	评语 Evaluation	分数 Score	评语 Evaluation	分数 Score	评语 Evaluation	分数 Score	评语 Evaluation	分数 Score	
福鼎大白茶(CK)	肥嫩绿润显毫	91	浅绿	90	清高	92	清鲜	92	绿亮	91	91.5
乳源群体	肥嫩带毫色暗	86	浅黄泛红	84	糖香、甜	90	苦(香)	80	黄绿较匀	86	85.2
麻栗坡群体	肥壮墨绿带毫	86	浅黄	88	嫩香	91	醇爽	91	绿尚亮	86	89.2

3 讨论

茶组植物的生物碱代谢旺盛,如本研究中的 403 份资源生物碱总量都在 17.9 mg/g 以上,Y. Takeda^[16]鉴定了日本保存的 1500 余份资源(春季),仅咖啡碱含量就达 16.4~54.6 mg/g,而 P. Mo-

hanpuria 等^[17]利用 RNAi 干扰技术仅将茶树的咖啡碱含量降低了 44%~61%,可能是因为茶树存在着多基因、多拷贝的 N-甲基转移酶基因家族。各省资源中,广东、云南的资源变异系数大、多样性指数高,挖掘出的 6 份特异生物碱资源也全部来源于广东和云南,而其他学者报道的特异生物碱资源也多发现

于云南或广东,今后应加强对广东和云南茶树资源的鉴定挖掘和保护利用。

本研究挖掘的 6 份特异资源为今后茶树生物碱的资源利用、基因挖掘、种质创新和育种改良奠定了材料基础,其中 3 份高咖啡碱资源可用于提取天然咖啡碱。近年陆续在厚轴茶中发现了一类新的低咖啡碱资源^[5,18-19],本研究发掘的麻栗坡群体也是该类资源,其优势生物碱为可可碱,且其滋味和香气都较好,可以直接作为低咖啡碱品种加以利用。但麻栗坡群体常规扦插繁殖困难,目前已通过提早扦插和使用生根粉等措施使其成活率提高至 30%。与咖啡碱具有兴奋作用不同的是,苦茶碱具有促进睡眠和抗抑郁作用^[20]。此外,X. Q. Zheng 等^[7]研究表明苦茶碱的合成是从核苷酸经过咖啡碱合成代谢途径而来的。本研究发掘的 1 份苦茶碱资源,用其杂交具有很好的结实性,可通过人工杂交从其后代中选育出高苦茶碱、低咖啡碱新品种。

致谢:感谢浙江大学茶叶研究所郑新强副教授帮助测定 2 份特异资源苦茶碱的含量。

参考文献

[1] Facchin P J. Alkaloid biosynthesis in plants; biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications[J]. Annu Rev Plant Biol, 2001, 52: 29-66.

[2] 周晨阳, 金基强, 姚明哲, 等. 茶树等植物中嘌呤生物碱代谢研究进展[J]. 茶叶科学, 2011, 31(2): 87-94

[3] Ashihara H, Kato M, Ye C X. Biosynthesis and metabolism of purine alkaloids in leaves of Cocoa tea(*Camellia ptilophylla*) [J]. J Plant Res, 1998, 111(4): 599-604

[4] 叶创兴, 林永成, 苏建业, 等. 苦茶的嘌呤生物碱[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1999, 38(5): 82-86

[5] 杨晓绒. 野生五柱茶和厚轴茶主要生化成分的研究[D]. 广

州: 中山大学, 2005: 41-42

[6] 闵天禄, 李炳钧, 王春, 等. 一种富含茶碱的保健茶及其制备方法: 中国, 1145178A[P]. 1997-03-17

[7] Zheng X Q, Ye C X, Kato M, et al. Theacrine(1,3,7,9-tetramethyluric acid) synthesis in leaves of a Chinese tea, kucha(*Camellia assamica* var. *kucha*) [J]. Phytochemistry, 2002, 60: 129-134

[8] Yao M Z, Ma C L, Qiao T T, et al. Diversity distribution and population structure of tea germplasms in China revealed by EST-SSR markers[J]. Tree Genet Genomes, 2012, 8: 205-220

[9] Chen L, Zhou Z X. Variations of main quality components of tea genetic resources [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] preserved in the China national germplasm tea repository[J]. Plant Food Hum Nutr, 2005, 60: 31-35

[10] 陈亮, 杨亚军, 虞富莲, 等. 茶树种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005

[11] 周卫龙, 徐建峰, 许凌. GB/T 8313-2008 茶叶中茶多酚与儿茶素含量的检测方法[M]. 北京: 中国标准出版社, 2008

[12] 龚淑英, 鲁成银, 刘栩, 等. GB/T 23776-2009 茶叶感官审评方法[M]. 北京: 中国标准出版社, 2009

[13] Li Y, Wu S Z, Cao Y S, et al. A phenotypic diversity analysis of foxtail millet(*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) landraces of Chinese origin[J]. Genet Resour Crop Ev, 1996, 43: 377-384

[14] 陈亮, 姚明哲, 王新超, 等. NY/T 2031-2011 农作物优异种质资源评价规范 茶树[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011

[15] Gao D F, Zhang Y J, Yang C R, et al. Phenolic antioxidants from green tea produced from *Camellia taliensis* [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(16): 7517-7521

[16] Takeda Y. Differences in caffeine and tannin contents between tea [*Camellia sinensis*] cultivars, and application to tea breeding[J]. JARQ, 1994, 28(2): 117-123

[17] Mohanpuria P, Kumar V, Ahuja P S, et al. Producing low-caffeine tea through post-transcriptional silencing of caffeine synthase mRNA[J]. Plant Mol Biol, 2011, 76(6): 523-534

[18] Liu Q, Zhang Y J, Yang C R, et al. Phenolic antioxidants from green tea produced from *Camellia crassicolumna* var. *multiplex* [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(2): 586-590

[19] 唐一春, 宋维希, 矣兵, 等. 低咖啡碱茶树种质资源的鉴定及评价[J]. 西南农业学报, 2010, 23(4): 1051-1054

[20] 谢果, 吴敏芝, 黄映如, 等. 1,3,7,9-四甲基尿酸抗抑郁作用的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(9): 1160-1163